

BEST AVAILABLE COPY
PATENT ABSTRACTS OF JAPAN.

(11)Publication number : 62-106005
(43)Date of publication of application : 16.05.1987

(51)Int.Cl. A61K 7/00
A61K 31/355
C07D311/72

(21)Application number : 60-246890 (71)Applicant : SANSHO SEIYAKU KK
(22)Date of filing : 01.11.1985 (72)Inventor : OYAMA YASUAKI

(54) EXTERNAL DRUG EFFECTIVE TO SUPPRESS FORMATION OF MELANINE

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide an external drug effective to suppress the formation of melanine without inhibiting tyrosinase activity and facilitating the transcutaneous absorption and the access to the objective cell, by dissolving or suspending vitamine E and/or vitamin E derivative in an aqueous phase.

CONSTITUTION: A natural vitamin E oil, a synthetic vitamin E such as α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol, etc., a vitamin E derivative such as vitamin E acetate, vitamin E succinate, tocopherol nicotinate, their salts or their mixture is dissolved or suspended in then aqueous phase of the objective external drug effective to suppress the formation of melanine without inhibiting tyrosinase activity and facilitating the transcutaneous absorption and the access to the objective cell. The agent is extremely effective for the prevention and remedy of chromatoses such as chloasma.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-106005

⑤ Int. Cl.

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 昭和62年(1987)5月16日

A 61 K 7/00
31/355
C 07 D 311/72

1 0 1

7306-4C

6640-4C 審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑥ 発明の名称 メラニン生成抑制外用薬剤

⑦ 特 願 昭60-246890

⑧ 出 願 昭60(1985)11月1日

⑨ 発 明 者 大 山 康 明 大野城市大池2-15-16

⑩ 出 願 人 三省製薬株式会社 大野城市大池2丁目26番7号

⑪ 代 理 人 弁理士 新 井 力 外2名

明 細 書

1. 発明の名称 メラニン生成抑制外用薬剤

2. 特許請求の範囲

1. ビタミンE及び/又はビタミンE誘導体を外用薬剤中の水相部に溶解又は懸濁状態で含有させたことを特徴とする皮膚吸収並びに対象部位の細胞アクセスを容易ならしめたチロシナーゼ活性阻害を有しないメラニン生成抑制外用薬剤。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は肝斑などの色素沈着症に対する外用療法に用いられる皮膚吸収並びに対象部位の細胞アクセスを容易ならしめたチロシナーゼ活性阻害を有しないメラニン生成抑制外用薬剤に関するものである。

(従来技術)

肝斑をはじめとする色素沈着症に対する治療法としては、ビタミンCの連続内服などによる方法が行われているが、色素沈着の程度が高度になる

とビタミンCの連続内服では改善されない場合が多い。また外用療法としては色素沈着症がメラノサイトの機能亢進によりひき起こされた表皮細胞のメラノソームの量の増大と考えられ、このメラニンの過剰生成を抑制させる方法としてメラノサイト機能を亢進させる紫外線の影響を防止する方法すなわち、光線遮断剤を含有した外用剤を局所に適用している。上記外用剤の光線遮断剤としてはタルク、亜鉛華、酸化チタン等の粉末などの光線を散乱させる物質の軟膏又は紫外線吸収剤例えばパラアミノ安息香酸などを含む軟膏などが用いられている。これらの光線遮断剤は紫外線によってひき起こされるメラノサイトの機能亢進を阻止することを目的とする。また、表皮におけるメラニン生成の抑制作用を持つ物質、ハイドロキノン、ハイドロキノン誘導体、コウジ酸などの脱色剤を含有した外用剤を色素沈着症の治療外用剤として用いたことも知られている。

一方、ビタミンEは主として内服剤として用いられている。また末梢血行障害による諸障害の緩

和に用いられる医薬であり、ビタミンEを油相に溶解させ軟膏とし「じもやけ」の薬剤として市販されている。

〔発明が解決しようとする問題点〕

上記従来技術において、色素沈着症の外用療法における外用薬剤に用いられる光線遮断剤は色素沈着が日光光線により増大するのを防止するために用いるものであるから、他の療法と共に使用するものであり、この薬剤の単独使用によっては色素沈着症の外用薬剤としての効果は期待できない。

脱色剤として用いられているハイドロキノン、ハイドロキノン誘導体、例えばハイドロキノンモノベンジルエーテルなどの外用剤は斑状ないし網状の白斑を副作用として生ずるおそれがあり、色素沈着症などの外用治療剤としては好ましくない。また、コウジ酸、コウジ酸誘導体などのメラニン生成抑制物質を含んだ外用剤はチロシナーゼ活性阻害物質であるため、ハイドロキノンなどに見られる白斑などの副作用を伴うことのないメラニン生成抑制作用があり、色素沈着症などの治療外用

メラニン生成抑制作用があることをB16細胞培養における細胞の組織的、生化学的観察により見出し、本発明を完成した。

本発明はビタミンE及び／又はビタミンE誘導体を外用薬剤中の水相部に溶解又は懸濁状態で含有させたことを特徴とする皮膚吸収並びに対象部位の細胞アクセスを容易ならしめたチロシナーゼ活性阻害物作用を有しないメラニン生成抑制外用薬剤である。

本発明に使用するビタミンE、ビタミンE誘導体は天然ビタミンE油及びα-トコフェロール、β-トコフェロール、γ-トコフェロール、δ-トコフェロールなどの合成ビタミンE、ビタミンEアセテート、ビタミンEサクシネート、ニコチン酸トコフェロールなどのビタミンE誘導体及びその塩類が含まれる。外用薬剤は、乳剤、ローション剤、軟膏剤などの剤形で、この薬剤を患部に塗布することによって症状の治療又は防止に用いるものである。

上記ビタミンE、ビタミンE誘導体の単独又は

用剤としてすぐれたものであるが、メラニン生成の酵染作用を阻害するものであるから、本質的なメラニン生成の阻止には未だ充分とはいえないものである。

本発明は、色素沈着症などの外用療法に用いる外用薬剤において、メラニン生成を十分に抑制する薬剤を得ることを目的とするものである。

〔問題点を解決するための手段〕

本発明者らは、上記目的を達成するため種々の研究を重ねた結果、ビタミンE及び／又はビタミンE誘導体を水相部に溶解又は懸濁させて外用製剤化したところ、ビタミンE、ビタミンE誘導体の水溶液がチロシナーゼ活性を阻害しないのに、メラニン生成抑制作用が極めて優れている驚くべき事実をマウス黒色腫由来のB16細胞による試験により確認した。

この作用は従来のコウジ酸などのメラニン色素脱色剤として用いられているチロシナーゼ活性阻害剤と異なり、全く別のチロシナーゼマチュレーションプロセスにおけるトランスファ阻害により

それらの2種以上の混合物を前記外用薬剤の水相部に溶解させるには、ビタミンE及び／又はビタミンE誘導体をリン脂質とリボソームを形成させて水溶化する方法、ビタミンE及び／又はビタミンE誘導体を界面活性剤、キアラサボン等のサボン類のビタミンE可溶化剤の存在下で水溶化させる方法などにより水溶液とするか、ビタミンE、ビタミンE誘導体を有機溶媒に溶かした有機溶媒溶液とするかして外用剤の水相部に配合する。なお、上記ビタミンE、ビタミンE誘導体は水相に完全に溶解せず、一部懸濁状態になっていてもビタミンE等が相中に分離しなければ本発明の外用剤として使用でき、かつ効果も充分奏することができる。また懸濁状態で外用剤の水相部に配合させてもよい。この場合懸濁剤としては界面活性剤、リン脂質などが用いられる。

前記のビタミンE及び／又はビタミンE誘導体を水溶化する場合、ビタミンE、ビタミンE誘導体のリボソームを形成させる場合は、一般のリボソームの製法に従って、卵黄レシチン、大豆レシ

特開昭62-106005(3)

チンなど天然レシチン及びジステアロイルレシチンなど合成レシチンのリン脂質を用いてビタミンE類含有リボソームとする。その製法としてはリン脂質とビタミンE類をクロロホルム、ベンゼンなどの溶媒に溶かし、これをロータリーエバポレーターを用いて溶媒を減圧留去し、生成した薄膜に緩衝水溶液を加えて激しく振り膨潤させて多重層リボソームを製造し、更に超音波を照射して1枚膜リボソームを製造する方法。リン脂質とビタミンE類を有機溶媒に溶解し、この溶液を攪拌中の緩衝剤水溶液に注加して、リボソームを製造する方法、リン脂質とビタミンE類をクロロホルム、ベンゼンなどの溶媒に溶かし、これに緩衝剤水溶液を加え、超音波により油中水型に乳化させ、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、ホルテックスにより水中油型に転相してリボソームを製造する方法などの公知の製法によって製造される。

ビタミンE、ビタミンE誘導体を界面活性剤を用いて、水に可溶化する場合、非イオン界面活性剤、例えばポリエチレングリコール脂肪酸エステ

ル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンヒマシ油、ポリオキシエチレンフィトステロール、ポリオキシエチレンラノリン誘導体、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンアルキルエーテルなど、陰イオン界面活性剤例えばアルキルエーテルリン酸などが用いられHLB15以上のものが好適である。また、上記界面活性剤にエタノール、プロピレングリコールなどを添加すると更に可溶化度が良好となる。

またビタミンE、ビタミンE誘導体を懸濁させるには、懸濁剤として上記リン脂質、界面活性剤などを添加して行う。

以上のごとくして調製したビタミンE、ビタミンE誘導体の水溶液又は水懸濁液を外用剤として製剤化するには、乳剤、ローション剤、軟膏剤の通常使用されている基剤を用い、上記製剤を製造する通常用いられている方法により製剤化する。

この場合、ビタミンE、ビタミンE誘導体の水溶液、懸濁液は、同製剤製造の場合の水相部分に配合する。配剤中のビタミンE、ビタミンE誘導体配合量は外用剤全量に対し0.1～3.0%(w/w)が好適である。

次に本発明のメラニン生成抑制外用薬剤のメラニン生成抑制を示す試験例を示す。

1. マウス黒色腫由来のB16培養細胞試験

(試験方法)

マウス黒色腫由来のB16培養細胞(B16細胞と言う)液にビタミンE含有水溶液のビタミンEを30 μ g/ml、20 μ g/ml、10 μ g/ml、2 μ g/ml、の濃度に添加した試験液を各別に調製し、このB16細胞を5日間37℃で培養し、5日後の細胞のメラニン生成度合(黒色度)を肉眼で観察した。

(試験結果)

ビタミンE濃度	0	2 μ g/ml	10 μ g/ml	20 μ g/ml	30 μ g/ml
白色化度	-	±	+	++	+++

白色化度 - 全く白色化せず
 ± わずかに白色化している
 + かなり白色化している
 ++ 白色化が明確にわかる
 +++ 黒色化が認められないほど白色化している

この試験結果より、B16メラノーマ細胞は、ビタミンEの添加量に比例して白色化度が進行することが判る。

II 本発明の軟膏をヒトの皮膚に塗布した試験

(試験方法)

A、B、Cの3つの病院に於いて、各々30名の肝斑患者を対象に軟膏の塗布試験を行った。最終判定は塗布開始より3ヶ月後に肉眼で観察して判定した。

特開昭62-106005(4)

(試験結果)

病 院 名	A	B	C	計
無 効	6	6	4	16
やや有効	7	4	8	19
有 効	12	15	14	41
著 効	5	5	4	14
計	30	30	30	90

(注) 無 効 白色が認められないもの
 やや有効 わずかに白色化が認められるもの
 有 効 明らかに白色化が認められるもの
 著 効 完治又はそれに近いもの

以上の結果から3つの病院で合計90名中無効16名、やや有効19名、有効41名、著効14名であった。やや有効から著効までを合計すると74名で有効率は82.2%であった。

Ⅲ ビタミンE含有液のチロシナーゼ活性抑制試験

a. マッシュルーム由来のチロシナーゼ活性抑制試験

(試験方法)

チロシン液 (0.3 mg/ml) 1.0 ml、0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.8) 0.9 ml、マッシュルームチロシナーゼ

(試験結果)

本試験の結果を第2図で示す。

この結果より明らかな通り、ビタミンE含有液のB16細胞チロシナーゼの抑制効果は認められなかった。

(考察)

以上の各試験結果を考察するに、本発明の外用薬剤のメラニン生成抑制効果は極めて優れたものである。その有効成分であるビタミンE又はその誘導体が、従来のメラニン抑制作用を有する物質が示すチロシナーゼ活性阻害の作用機作によるメラニン生成抑制作用でないことは上記試験Ⅲのチロシナーゼ活性阻害を示さない結果より明らかである。本発明のメラニン生成抑制が表皮内における基底層に存在するメラノサイト内でプレメラノソームへのチロシナーゼトランスフェ阻害によるメラニン生成抑制作用であることが示唆される。

これは、従来のチロシナーゼ活性阻害による作用と全く異なる作用機作によるものである。

(400 U/ml) 0.1 mlにビタミンEを0.1 μ g/ml、0.05 μ g/ml、0.03 μ g/ml含有した水溶液1.0 mlを加えた試料を夫々調製し、対照としてビタミンEを含有しない液を調製し、37℃で0～15分間の475 nmにおける吸光度の増加を測定した。

(試験結果)

本試験の結果を第1図で示す。

この結果より明らかな通り、ビタミンE含有液のマッシュルームチロシナーゼ抑制効果は認められなかった。

b. B16細胞由来のチロシナーゼ活性抑制試験

(試験方法)

B16細胞ホモジネート11000 G上清0.1 ml 10mM D-バ1.0 ml、0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.8) 0.9 mlに下記製造例で製造したビタミンEを0.1 μ g/ml、0.05 μ g/ml、0.03 μ g/ml、含有液1.0 mlを加えた試料を夫々調製し、対照としてビタミンEを含有しない液を調製し、37℃で0～15分間の475 nmにおける吸光度の増加を測定した。

(実施例)

次に本発明の外用薬剤の有効成分であるビタミンE、ビタミンE誘導体含有水溶液の製造例並びに本発明外用剤の実施例を示す。

製造例1

卵黄レシチンと天然ビタミンEをエタノールに溶解し、45℃に加温する。

次に約40℃に加温した精製水に上記卵黄レシチンと天然ビタミン含有液を攪拌しながら注入し、室温まで冷却後メンブランフィルターを用いて濾過しビタミンEリポソーム液を得る。

製造例2

ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油(100E.O.) 5 gに酢酸 dl- α -トコフェロール1 gを加えて、約80℃に加温した後、約80℃に加温した精製水96 gに加えて攪拌、冷却し透明な溶液を得る。

製造例3

モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E.O.) 3 gに dl- α -トコフェロール2 gを加えて、約80℃に加温した後、約80℃に加温した精製

水95gに加えて攪拌、冷却し乳濁状の溶液を得る。

実施例1(軟膏剤)

モノステアリン酸ポリエチレングリコール(40E.0.) 2.00g、自己乳化型モノステアリン酸グリセリン 5.00g、ステアリン酸5.00g、ベヘニルアルコール 1.00g、流動パラフィン10.00g、トリオクタン酸グリセリル10.00g、バラオキシ安息香酸メチルエステル0.20gを加温溶解する。これに1, 3-ブチレングリコール5.00g及び精製水42.0gを加温した溶液を加え乳化攪拌し、冷却する。かくして得られた乳化液に製造例2により製造した、酢酸d- α -トコフェロール0.2gを含有する液20.0g及び香料を微量加え攪拌混合し、冷却後容器に充填し、検査後製品とする。

実施例2(乳剤)

モノステアリン酸ポリオキシエチレンソルビタン(20E.0.)1.00g、テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルビット(60E.0.)0.50g、親油型モノステアリン酸グリセリン1.00g、ステアリン酸0.50g、ベヘニルアルコール0.50g、アボカド油4.00g、トリ

オクタン酸グリセリル4.00g、バラオキシ安息香酸メチルエステル0.20gを加温溶解する。これに1, 3-ブチレングリコール5.00g、キサンタンガム0.14g、製造例3により製造したd- α -トコフェロール1.5g含有懸濁液75.00g及び精製水7.0gを加温した溶液を加え乳化攪拌し、冷却する。この液に香料を微量加え攪拌混合する。かくして得られた液を冷却後、容器に充填し検査後製品とする。

実施例3(ローション剤)

製造例1において天然ビタミンE1.0g、卵黄レシチン1.0g、エタノール8.0gを用いて製造した天然ビタミンEリボソームとバラオキシ安息香酸メチルエステル0.10g、ヒアルロン酸0.01g、香料微量と精製水を加え全量を100gとし攪拌混合し、容器に充填し検査後製品とする。

本発明で得られたメラニン生成抑制外用薬剤は、その症状により適宜使用されるが、一般に1日3回洗顔後患部に塗布することにより充分その効果が奏せられる。

なお本発明の有効成分であるビタミンEはWHOの

報告で、急性毒性は認められないとしている。

(発明の効果)

本発明の外用薬剤はビタミンE、ビタミンE誘導体が水溶液又は懸濁状態で製剤基剤中の水相に配合されているから、本外用薬剤を皮膚患部に塗布した際、ビタミンE、ビタミンE誘導体が表皮層を透過し、表皮基底層においてメラノサイトに吸収されメラノサイト内でプレメラノソームへのチロジナーゼトランスファ阻害によりメラニン生成を顕著に抑制するものである。このような皮膚の吸収並びに対象部位の細胞アクセスを容易にしたチロシナーゼ活性阻害を有しないメラニン生成抑制外用剤は本発明により始めて見いだされたものである。このように、本発明の外用薬剤はこれを肝斑などの色素沈着症の予防、治療に極めて有効なものである。

4.図面の簡単な説明

第1図はマッシュルームチロシナーゼに対するビタミンE液のチロシナーゼ活性阻害の試験結果を示す図である。図中-▲-は0.1 μ g/mlビタミンE濃度水溶液、-●-は0.05 μ g/mlビタミンE濃度

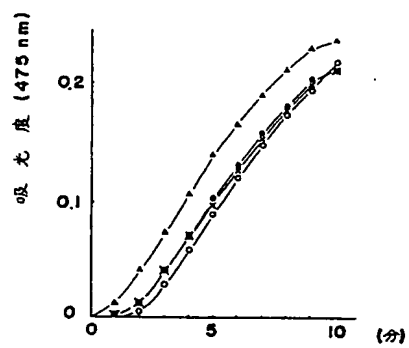
水溶液、-×-は0.03 μ g/mlビタミンE濃度水溶液、-○-はビタミンEを含有しない液(対照)の各475nmの吸光度を示す。

第2図はB16細胞ホモジネートのチロシナーゼに対するビタミンE含有液のチロシナーゼ活性阻害の試験結果を示す図である。図中-▲-、-●-、-×-、-○-は第1図と同じである。

特許出願人
代理人

三省製薬株式会社
新井力(ほか2名)

第 1 図



第 2 図

